PITTIERIA Nº 25, 7-26, 1996

ANATOMIA COMPARATIVA DE LA SEMILLA DE CUATRO ESPECIES NEOTROPICALES DE PIPER (*PIPERACEAE*): Un nuevo concepto.

***Héctor López-Naranjo*[1]**
***Jorge Parra*[2]**

RESUMEN

El problema central de **Piper** consiste en que la espiga fructífera sólo produce semillas proembriónicas, es decir, unidades inmaduras que son dispersadas estando aún indiferenciadas. Estas semillas consisten de un volumen enorme de perisperma amiláceo, en cuyo ápice hay un proembrión hialino mínimo embebido en una pequeña masa de endosperma. El otro problema está en que el crecimiento y diferenciación del proembrión en embrión verdadero ocurre después de la diseminación, es decir, en el piso húmedo del bosque o en el agua, siempre que las condiciones sean apropiadas para el desarrollo. La semilla madura o embriónica tiene una estructura más simplificada: el embrión es el órgano dominante, el endosperma forma una ampolla en el extremo micropilar y el perisperma está bastante disminuido. El embrión piperáceo verdadero es recto, grande, con la radícula macropódica y los cotiledones foliáceos, cortos y desiguales. La presencia de cloroplastos en los cotiledones es otra característica sobresaliente del embrión de **Piper**. El verdadero tejido nutricio es el perisperma y no el endosperma, el cual persiste durante todo el desarrollo y se especializa en la

1 Profesor Titular. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Mérida-Venezuela.
2 Profesor Agregado de la misma institución. Departamento de Botánica.

transferencia de metabolitos respiratorios. La germinación es rápida y las plántulas epígeas. Se demuestra además en este artículo que el género reúne especies con frutos drupáceos (***P. bogotense***) y especies con bayas monospermas (***P. diffamatum, P. nobile*** y ***P. eriopodon***). Aunque las cuatro especies son propias de bosque nublado, las mayores progresiones y ventajas en la competencia las tiene ***Piper eriopodon.***

PALABRAS CLAVES: **Piper,** semilla proembriónica, semilla embriónica, testa, endosperma, perisperma, evolución, germinación, plántula.

INTRODUCCION

El enigma mayor de las Piperaceae fue siempre la semilla: la unidad básica de la evolución y la filogenia. Los estudios sobre las unidades de dispersión de **Piper** y **Peperomia,** los principales géneros de la familia, siempre originaron resultados conflictivos, tanto que muy rara vez son referidos en la literatura botánica especializada. Los primeros y únicos resultados datan del siglo pasado y corresponden a los de BAILLON (1872) en relación a ***Piper nigrum*** y los de JOHNSON (1902) sobre el desarrollo de algunas especies de **Piper, Heckeria** (=Pothomorphe) y **Peperomia.** Estos autores coinciden en señalar que "tanto la semilla de **Piper** como la de **Peperomia** tienen el embrión minúsculo e indiferenciado, y una combinación de endosperma más perisperma como tejido nutricio (amiláceos ambos)". Estas conclusiones y los detalles sobre megagametogénesis siempre resultaron incómodas para los evolucionistas de la época, sobre todo por la extraña relación entre embrión y tejido nutricio, por las características primitivas en el desarrollo, y por no guardar la debida correlación con las estructuras florales y vegetativas. La estructura del óvulo en **Piper** (por ej. ***P. marginatum*** y ***P. amalago***), es descrita en detalle por TUCKER (1982): ortótropo y bitegumentado con el tegumento externo más favorecido en el desarrollo que el interno. Según TUCKER (1982) es probable que las especies actuales de **Peperomia,** con gineceos unicarpelares y óvulos unitegumentados, hayan evolucionado mediante un proceso de reducción y simplificación, de ancestros semejantes a **Piper** que tenían gineceos 3-carpelares y óvulos bitegumentados. Algunos aspectos históricos-taxonómicos sobre las Piperaceae es presentado por CAMPBELL (1902), YUNCKER

(1958), STANDLEY & STEYERMARK (1952), RENDLE (1975) y TUCKER (1982). En la presente investigación se analiza el sistema "espiga fructífera-semilla-germinación-plántula". Se demuestra, además, que: **(a)** el "diagrama de BAILLON", el cual es reproducido sin modificaciones en la última edición de la obra de ENGLER, es engañoso; y **(b)** los "resultados de JOHNSON" son sólo parciales, pues fracasan al referirse al embrión y caracteres del endosperma.

MATERIALES Y METODOS

Se describe e ilustra la anatomía comparativa de las semillas y plántulas de ***Piper eriopodon*** (Miq.) C.DC., ***Piper diffamatum*** Trel. & Yuncker, ***Piper nobile*** C.DC. y ***Piper bogotense* C.DC.** Todo el material proviene de los bosques nublados del Estado Mérida (Venezuela) situados en altitudes de 1450-1950 metros (***P. eriopodon***), 1550-2300 metros (***P. nobile***) y 2400-2450 metros (***P. diffamatum*** y ***P. bogotense***). De cada especie se colectó suficiente material fructífero, seleccionando todas las espigas que habían completado la maduración. Una parte del material se usó para las pruebas de germinación aislando las semillas por maceración manual en agua; otra, para el estudio microscópico e histoquímico comparativo, mediante cortes longitudinales y transversales de las espigas fructíferas y micromacerados en agua de porciones de las mismas; la porción última fue procesada para los cortes en el micrótomo y preparación de las láminas permanentes, según las técnicas usuales conocidas en anatomía vegetal. Las semillas aisladas de las espigas fructíferas fueron puestas a germinar en pequeños recipientes conteniendo suelo orgánico húmedo, bajo condiciones de luz, sombra e hipoxia en agua corriente a temperatura ambiental. Este procedimiento, repetido dos veces para cada muestra, permitió seguir el curso del desarrollo y la evolución del embrión y demás partes de la semilla mediante observaciones contínuas bajo la lupa estereoscópica. Las descripciones taxonómicas de las especies estudiadas están contenidas en STEYERMARK (1984, Flora de Venezuela: ***Piperaceae***).

RESULTADOS

La estructura de la semilla en las especies de **Piper** está ligada a un complicado desarrollo multifactorial que se extiende más allá de la maduración de la infrutescencia y la diseminación. Es decir,

la semilla, luego de adquirir un estado primordial de desarrollo dentro del fruto, alcanza la madurez morfológica y anatómica en el suelo húmedo del bosque o en el agua, una vez liberada de las partes carnosas del fruto y sólo si los factores del hábitat resultan apropiados para el desarrollo. Queda demostrado en esta investigación que la semilla pasa por dos fases anatómica y evolutivamente distintas: una proembriónica estructuralmente primitiva y complicada, y otra embriónica histológicamente simplificada y moderna.

Se describen y detallan los siguientes aspectos: **I.** Espiga fructífera; **II.** Semilla; **III.** Tamaño y color de la semilla; **IV.** Germinación y plántula.

I. ESPIGA FRUCTIFERA

Los caracteres generales de la espiga fructífera están registrados en el Cuadro Nº 1. Desde el punto de vista morfológico, la espiga fructífera de **Piper** se puede interpretar como una verdadera infrutescencia en la cual las unidades de construcción pueden ser drupas típicas o bayas monospermas, dependiendo de la especie. Los frutos de ***P. bogotense*** son drupas; los de ***P. diffamatum, P. nobile*** y ***P. eriopodon*** son bayas. Anatómicamente, la infrutescencia consiste de los siguientes componentes: **(a)** un eje central doblemente vascularizado, con un sistema de haces periféricos y otro sistema de haces medulares, a semejanza del sistema vascular primario del tallo; **(b)** un parénquima perivascular, limitado internamente por una endodermis caulina ***(P. eriopodon)*** o una

CUADRO Nº 1.

Especie	**Espiga Fructífera** Long. (cm)	Diámetro (mm)	**Número de Frutos /Espiga**
Piper nobile	35-50	7.5-9	3.700-4.200
Piper eriopodon	8-10	4.5-6	1.800-2.160
Piper diffamatum	7-10	5-5.5	700-850
Piper bogotense	4-6.5	8-9	360-750

vaina amilífera (***P. diffamatum, P. bogotense***); **(c)** un elevado número de frutos carnosos, hasta 4200 en ***P. nobile***; y **(d)** un sistema de brácteas florales, las cuales conservan la misma textura carnosa del fruto. De la base ventral y las márgenes de las brácteas nacen apéndices de extremos puntiagudos, densidad y tamaño variables, constituidos por tricomas simples pluricelulares de gran movilidad. La fructificación de ***P. nobile***, a parte de su gran desarrollo, difiere de la de las otras especies por carecer de endodermis o vaina amilífera, y sobre todo por la esclerificación parcial del tejido axial profundo: engrosamientos reticulados fuertes en las células de la médula, y células pétreas grandes y pequeñas en el parénquima perivascular, todo lo cual le imprime cierta rigidez a la espiga madura.

El contenido celular de la espiga fructífera inmadura es muy variable. Usualmente hay concentraciones altas de almidón en el parénquima perivascular, las brácteas y los tejidos del fruto. Asimismo, numerosos canales y células secretoras de aceite o de mucilago son comunes en los tejidos periféricos y profundos del fruto, lo mismo que en las brácteas.

Un aspecto de importancia ecológica se pudo comprobar en las cuatro especies examinadas. Se refiere a que muchos de los frutos de cada fructificación, en alto porcentaje, son estériles; es decir, carecen de semillas viables, o si las tienen éstas son completamente vacías o están llenas de un líquido multinucleado casi transparente. Bajo condiciones normales de desarrollo, la esterilidad mayor (cerca del 50 % o más) se observa en ***P. nobile*** y la menor en ***P. bogotense.*** Sin embargo, el fenómeno tiende a incrementar y hacerse más notable en las infrutescencias producidas durante los meses secos y fríos del año. Al no haber semillas tampoco hay almidón ni aceite en los tejidos carpelares o axiales de los referidos órganos.

El fruto de ***Piper bogotense*** se distingue del de las otras especies por su mayor volumen (4 mm largo por 1.9 mm ancho en la región apical), por su mayor contenido de aceite que almidón en la pulpa, y sobre todo por sus caracteres propios de drupa. La pulpa parenquimática, en la cual no hay fibras, esclereidas, ni células pétreas, es muy simple: consiste de una porción periférica de naturaleza oleífera-amilífera y otra profunda sólo oleífera. La condición oleífera es debido a la profusión de células secretoras

distribuidas irregularmente. El endocarpo, de un espesor tres veces mayor que la testa subyacente, es uniseriado y se halla recorrido longitudinalmente por tres (a veces cuatro) hacecillos vasculares que convergen y desembocan en el ápice del fruto. El aceite y el almidón son hidrolizados rápidamente durante la maduración.

El fruto baccáceo que distingue a los otros representantes del género contiene mayor proporción de almidón que aceite en la pulpa y la vascularización discurre a través del parénquima profundo sin llegar a establecer contacto con la semilla. En estos ejemplos toda la pared del ovario, sobre todo la porción apical, adquiere consistencia carnosa y jugosa de modo tal que la distinción entre "exocarpo" y "mesocarpo" resulta difícil de establecer. Así, en ***Piper nobile*** la pulpa parenquimática es bastante homogénea y la única especialización consiste en numerosos canales secretores de mucilago distribuidos irregularmente, los más pequeños en la periferia y los mayores en el tejido profundo. Una estructura similar ocurre en ***P. diffamatum*** donde el fruto inmaduro contiene parénquima amilífero y células secretoras de aceite. Finalmente, en ***P. eriopodon*** hay una clara diferenciación entre la pulpa externa y la interna: la primera consiste de una combinación de parénquima amilífero y secretor de mucilago; la segunda está representada por un parénquima de finas paredes y estructura radiada, aparentemente no secretor, que bordea la región micropilar de la semilla.

En suma, entre las especies de frutos baccáceos, la infrutescencia más primitiva la tiene ***P. nobile*** y la más evolucionada corresponde a ***P. eriopodon***. La estructura morfológica básica del fruto en ***P. eriopodon*** y ***P. bogotense*** es mostrada en la figura 1.

II. SEMILLA

Las semillas inmaduras de **Piper** son tetraláteras con los lados homólogos convergentes hacia el hilum y la región micropilar ensanchada. El hilum y el micrópilo son opuestos. Las unidades de ***P. nobile*** se distinguen además por ser más anchas que largas, mientras las de ***P. bogotense*** son ovoides o subovoides (Fig. 1). Las semillas maduras o embriónicas se distinguen por una ampolla endospérmica en el extremo micropilar.

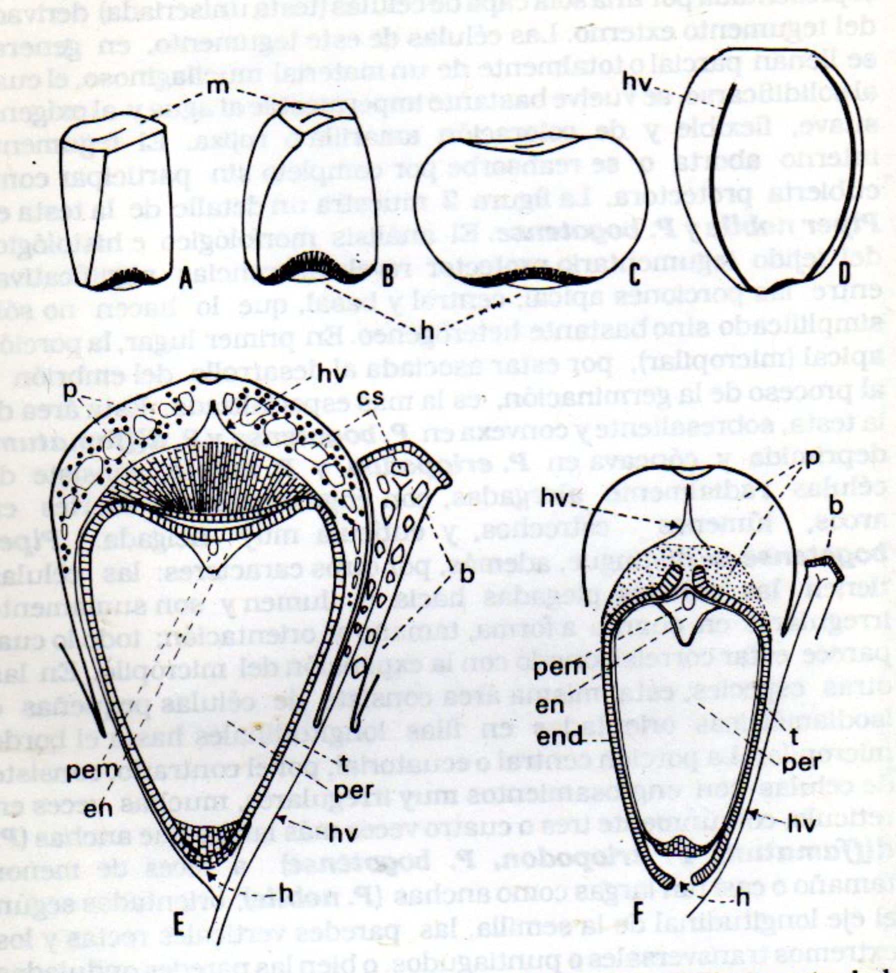


FIGURA 1. Piper. Semilla proembriónica (A-D) y fruto (E,F): Aspecto de la semilla inmadura en ***P. eriopodon*** (A), P. diffamatum (B), ***P. nobile*** (C) y ***P. bogotense*** (D). E) Baya, en sección longitudinal mediana, de ***P. eriopodon***, destacando los caracteres del pericarpo y la semilla: los círculos negros en la pulpa son los núcleo de las células. F) Drupa, en sección longitudinal mediana, de ***P. bogotense***, mostrando la relación entre pulpa, endocarpo y semilla. En todos los ejemplos: m=micrópilo, h=hilum, hv=vascularización del fruto, end=endocarpo, p=pulpa, cs=canales secretores de mucilago, b=bráctea, t=testa, per=perisperma, en=endosperma, pem=proembrión. Original de H. López-Naranjo, 1996

1.TESTA. La cubierta seminal en las especies de **Piper** está representada por una sola capa de células (testa uniseriada) derivada del tegumento externo. Las células de este tegumento, en general, se llenan parcial o totalmente de un material mucilaginoso, el cual, al solidificarse, se vuelve bastante impermeable al agua y al oxígeno, suave, flexible y de coloración amarilla o rojiza. El tegumento interno aborta o se reabsorbe por completo sin participar como cubierta protectora. La figura 2 muestra un detalle de la testa en ***Piper nobile*** y ***P. bogotense.*** El análisis morfológico e histológico del tejido tegumentario protector revela diferencias significativas entre las porciones apical, central y basal, que lo hacen no sólo simplificado sino bastante heterogéneo. En primer lugar, la porción apical (micropilar), por estar asociada al desarrollo del embrión y al proceso de la germinación, es la más especializada. Esta área de la testa, sobresaliente y convexa en ***P. bogotense*** y ***P. diffamatum,*** deprimida y cóncava en ***P. eriopodon*** y ***P. nobile,*** consiste de células radialmente alargadas, con engrosamientos fuertes en arcos, lúmenes estrechos, y cutícula muy delgada. ***Piper bogotense*** se distingue, además, por otros caracteres: las cèlulas tienen las paredes plegadas hacia el lumen y son sumamente irregulares en cuanto a forma, tamaño y orientación; todo lo cual parece estar correlacionado con la expansión del micrópilo. En las otras especies, esta misma área consiste de células pequeñas e isodiamétricas orientadas en filas longitudinales hasta el borde micropilar. La porción central o ecuatorial, por el contrario, consiste de células con engrosamientos muy irregulares, muchas veces en retículo, comúnmente tres o cuatro veces más largas que anchas (***P. diffamatum, P. eriopodon, P. bogotense***) a veces de menor tamaño o casi tan largas como anchas (***P. nobile***), orientadas según el eje longitudinal de la semilla, las paredes verticales rectas y los extremos transversales o puntiagudos, o bien las paredes onduladas y arqueadas y los extremos a veces superpuestos (***P. eriopodon***), todas las cuales tienden a acortarse hacia la región micropilar y del hilum, acompañada de un incremento en el espesor de las paredes. La región del hilum, finalmente, es un área poco especializada constituida de células muy cortas y anchas, de paredes gruesas y de una coloración más obscura que el resto de la semilla.

La superficie de la semilla, particularmente en las especies de frutos baccáceos, presenta un revestimiento extrategumentario

consistente de corpúsculos ovoides de color blanco. Estos corpúsculos, los cuales se concentran sobre todo alrededor de la región micropilar y del hilum, son auténticos leucoplastos que le imprimen una tenue coloración verdosa a la semilla cuando es expuesta a la luz. La concentración de leucoplastos es bastante alta en ***P. diffamatum***, moderada en ***P. eriopodon*** y baja en ***P. nobile***. En suma, la simplificación de la testa en las especies de **Piper** es de tal grado que las homologías con otros taxa leñosos resultan difíciles de establecer. Por otro lado, se puede asumir que la completa absorción y supresión del tegumento interno en la semilla está correlacionada con la ausencia del perianto en las flores, y también con la tendencia del tallo a la simplificación morfológica y anatómica. Sobre este aspecto, las observaciones demuestran que las correlaciones más evidentes son la reducción del número de yemas por región nodal y la simplificación histológica de la endodermis caulina, todo lo cual ocurre cuando el tallo pasa de la fase vegetativa a la reproductiva (LOPEZ-NARANJO & PARRA, 1993).

2. PERISPERMA. La semilla inmadura (Fig. 1) presenta un volumen enorme de perisperma amiláceo, el cual se extiende desde el hilum hasta el micrópilo donde deja un pequeñísimo receptáculo donde se alojan el endosperma y el proembrión. El tejido en cuestión consiste de un parénquima homogéneo de células vivas, ordenadas radialmente, donde se deposita toda la energía necesaria para el desarrollo y la germinación. Histoquímicamente, el almidón de reserva consiste de microgránulos simples, muy variables en forma y tamaño. La más alta concentración de almidón por unidad de volumen la tiene ***P. eriopodon*** y la más baja ***P. nobile***. A parte de esto, el perisperma de ***P. nobile*** carece de almidón en la periferia, mientras el de ***P. diffamatum*** es fistuloso a lo largo de la porción central.

La semilla madura (Fig. 3) tiene el perisperma bastante disminuido como resultado del crecimiento y diferenciación del embrión, aunque el mayor volumen del mismo es reservado hasta el momento de la germinación cuando es absorbido por completo. Es interesante destacar que, a diferencia de los tejidos del fruto, el perisperma carece de canales o de células secretoras de aceite o de mucílago. Este tejido amilífero, además, siempre se mantiene aislado del embrión, pues entre ambos interactúa el endosperma.

3. ENDOSPERMA. El endosperma piperáceo no contiene almidón ni aceite, por lo que difícilmente pueda admitirse como un verdadero tejido nutricio como erróneamente fue descrito por los primeros autores. Este tejido de escaso volumen, cuya naturaleza química se aproxima más a la del tegumento que al perisperma, puede separarse con relativa facilidad del resto de la semilla por presión apical de ésta o con la ayuda de una aguja de disección suficientemente fina. Persiste durante todo el desarrollo y aunque no contiene cloroplastos es fotosensible debido a la presencia de pigmentos amarillos y rojos. En la semilla juvenil (proembriónica) el endosperma consiste de una masa celular mucilaginosa-gelatinosa, de aspecto cónico o peltado, cuya base, de unos 150-300 micrómetros de diámetro, está orientada hacia el micrópilo, mientras el ápice mira en dirección opuesta. Embebido en esta estructura se halla en estado de reposo el proembrión (Figs. 1 y 2).

En la semilla adulta (embriónica) el endosperma consiste de una película celular flexible y elástica, semejante a una membrana semipermeable, de unos 20-60 micrómetros de espesor que permite la transferencia de carbohidratos solubles y otros metabolitos respiratorios desde el perisperma central hasta el embrión en desarrollo. El estado final de la maduración de la semilla se evidencia por la formación de una ampolla amplia y estable sobre el micrópilo; esta estructura tiene origen en el endosperma y se distingue por ser transparente o semitransparente y pigmentada. En general, la ampolla endospérmica incrementa la superficie libre de la semilla y sobre todo constituye la prueba morfológica más evidente de que el embrión ha alcanzado el tamaño adulto propio de la especie (Fig. 3).

4. EMBRION. El embrión se origina del proembrión mediante un proceso dependiente de varios factores, como son: **(a)** la dispersión de la espiga fructífera o parte de ella; **(b)** la diseminación y liberación de la semilla al piso húmedo del bosque; **(c)** la activación celular del proembrión y **(d)** el incremento del área de la semilla a expensas del endosperma. En otras palabras, la semilla nunca alcanza la maduración dentro del fruto, lo que explica la falta de correlación con las partes florales y vegetativas que los primeros autores no pudieron explicar.

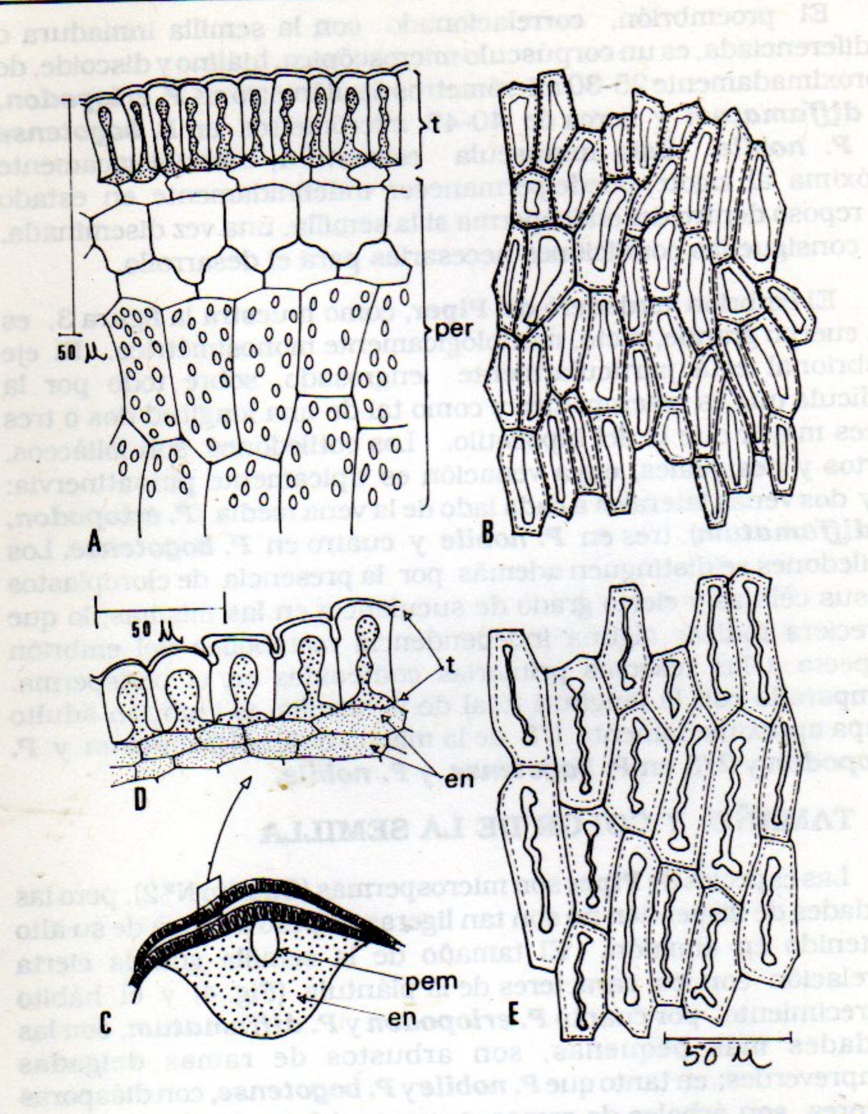


FIGURA 2. Piper. Estructura microscópica de la testa en ***P. nobile*** (A,B) y ***P. bogotense*** (C-E): A) Sección longitudinal mediana de la semilla cerca de la región apical destacando la testa (t) y el perisperma subyacente (per). B) Aspecto de las células que bordean la región del hilum. C) Región micropilar (apical) de la semilla, destacando el tejido tegumentario y su relación con el endosperma (en) y el proembrión (pem). E) Células de la testa que bordean la región del hilum. Original de H. López-Naranjo, 1996.

El proembrión, correlacionado con la semilla inmadura o indiferenciada, es un corpúsculo microscópico, hialino y discoide, de aproximadamente 25-30 micrómetros de diámetro en ***P. eriopodon, P. diffamatum*** y cerca de 40-45 micrómetros en ***P. bogotense*** y ***P. nobile.*** Esta minúscula estructura, embriológicamente próxima al zigote, puede permanecer indefinidamente en estado de reposo dentro del endosperma si la semilla, una vez diseminada, no consigue las condiciones necesarias para el desarrollo.

El embrión verdadero de **Piper**, como muestra la figura 3, es un cuerpo grande, recto, morfológicamente monosimétrico. El eje embrional está particularmente engrosado, sobre todo por la radícula que es macropódica y como tal de una longitud dos o tres veces mayor que la del hipocótilo. Los cotiledones son foliáceos, cortos y desiguales, cuya venación es típicamente pinnatinervia: hay dos venas laterales a cada lado de la vena media (***P. eriopodon, P. diffamatum***), tres en ***P. nobile*** y cuatro en ***P. bogotense.*** Los cotiledones se distinguen además por la presencia de cloroplastos en sus células y cierto grado de suculencia en las mismas, lo que pareciera indicar alguna independencia metabólica del embrión respecto a las reservas primarias contenidas en el perisperma. Comparado con la longitud total de la semilla, el embrión adulto ocupa aproximadamente 1/3 de la misma en ***P. diffamatum*** y ***P. eriopodon*** y 2/3 en ***P. bogotense*** y ***P. nobile.***

III. TAMAÑO Y COLOR DE LA SEMILLA

Las especies de **Piper** son microspermas (Cuadro Nº 2), pero las unidades de dispersión no son tan ligeras de peso a causa de su alto contenido en almidón. El tamaño de la semilla guarda cierta correlación con los caracteres de la plántula (Fig. 4) y el hábito de crecimiento, por cuanto ***P. eriopodon*** y ***P. diffamatum***, con las unidades más pequeñas, son arbustos de ramas delgadas siempreverdes; en tanto que ***P. nobile*** y ***P. bogotense,*** con diásporas mayores, son árboles de ramas gruesas, el leño de las cuales es descrito por ESPINOZA DE PERNIA & LEON (1995).

CUADRO Nº 2

ESPECIE	SEMILLA LARGO (mm)	SEMILLA ANCHO (mm)
Piper bogotense	2-2.5	1.5-2
Piper diffamatum	1.2-1.5	0.8-1.2
Piper nobile	1-1.4	1.8-2.2
Piper eriopodon	1-1.2	0.5-0.8

El color y pigmentación también es variable. Las semillas pirénicas de ***Piper bogotense*** tan pronto son liberadas del fruto y expuestas a la luz adquieren rápidamente una coloración negruzca, en cuya superficie destacan tres o cuatro líneas longitudinales de origen vascular. ***Piper diffamatum*** también las tiene rojizo-negruzcas o marrones. La situación en ***P. nobile*** y ***P. eriopodon*** es más interesante: ambas especies contienen un pigmento rojo en la testa que le imprime una brillantez muy sugestiva a la semilla. El pigmento guarda alguna correlación, no como atractivo para la dispersión por pájaros, sino con la dependencia por la luz que tienen las semillas para germinar en el suelo húmedo del sotobosque, lo cual no ocurre en las otras especies. De hecho, como se demuestra en el capítulo siguiente, las semillas de **Piper** no requieren atravezar el tracto intestinal de algún animal para poder germinar y establecerse con éxito.

IV. GERMINACION Y PLANTULA

La combinación exacta de los factores ambientales que favorecen la germinación y el establecimiento de las plántulas son dificiles de precisar, toda vez que cada especie tiene su propio "hábito de germinación". Sin embargo, se pudieron determinar dos comportamientos fisiológicamente opuestos: uno anaeróbico y otro aeróbico.

Las semillas de ***Piper eriopodon*** y ***P. diffamatum***, aisladas de la espiga madura, tienen la habilidad de germinar sumergidas en

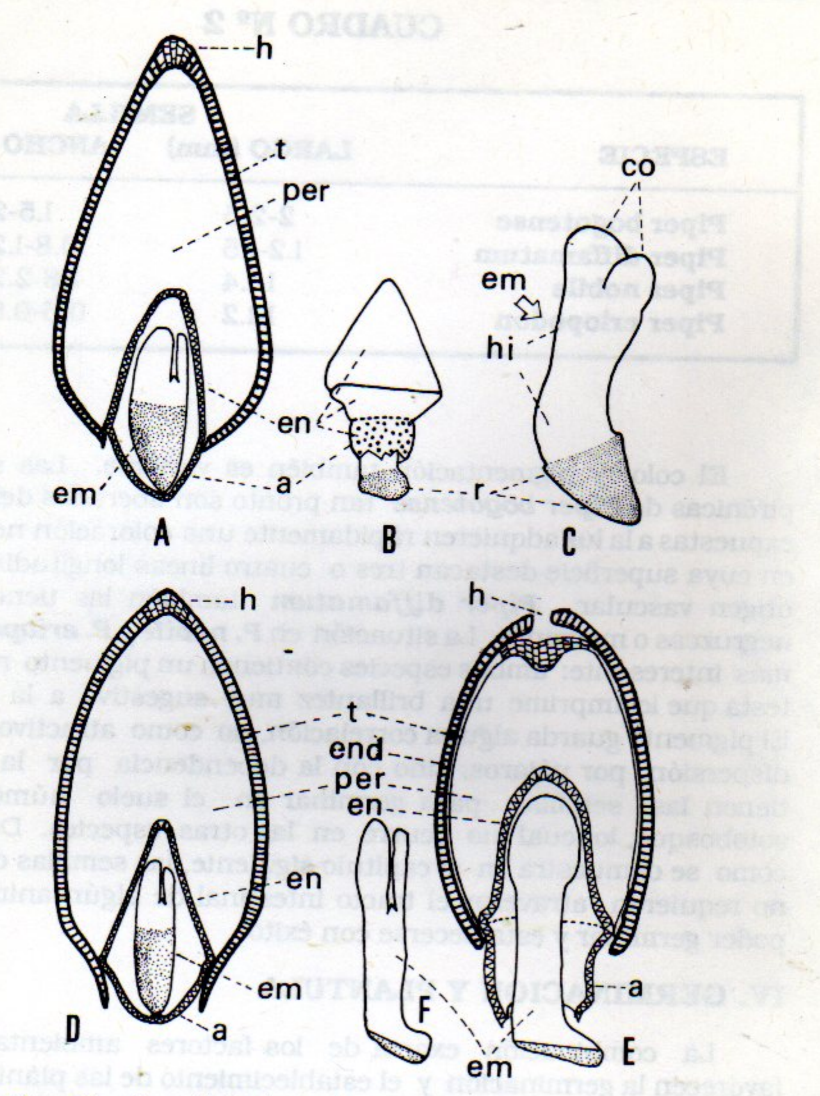


FIGURA 3. Piper. Semilla embriónica madura, en sección longitudinal, mostrando la relación morfológica exacta entre embrión (em), endosperma (en) y perisperma (per), en: ***P. eriopodon*** (A, B, C), ***P. diffamatum*** (D) y ***P. bogotense*** (E,F). Se ilustra, además, testa (t), hilum (h), ampolla endospérmica (a), endocarpo (end), y las partes del embrión activo en (C): radícula (r), hipocótilo (hi) y cotiledones (co). Nótese que el embrión es macropódico de raíz y monosimétrico, mientras el endosperma es flexible, elástico y persistente. Original de H. López-Naranjo, 1996.

agua corriente (profundidad variable) bajo condiciones anaeróbicas, siempre que sean expuestas a condiciones moderadas de luz y temperatura ambiental. Este proceso germinativo en ausencia de oxígeno, el cual da lugar a plántulas sanas y viables, se inicia a los 15 días en ***P. eriopodon*** y a los 30 en ***P. diffamatum*** con 90-100% de germinabilidad. La anaerobiosis por hipoxia, no obstante, es incapaz de promover la germinación en ***P. bogotense*** y ***P. nobile.***

Un comportamiento muy distinto se observa cuando las semillas aisladas son puestas a germinar en atmósfera aireada, suelo orgánico siempre húmedo, temperatura ambiental y exposiciones alternas de luz y sombra. Bajo estas condiciones el más alto porcentaje de germinación ocurre en ***P. eriopodon*** cuando las semillas son iluminadas, y en ***P. diffamatum*** bajo condiciones de sombra. ***Piper nobile*** requiere de un estímulo lumínico para poder germinar, aunque la germinabilidad es muy pobre. Al contrario, ***P. bogotense*** germina mucho mejor en ambiente sombreado que en luz solar directa.

En suma, estos resultados sobre el comportamiento de las semillas y plántulas concuerdan con las condiciones del hábitat de cada especie (véase STEYERMARK, 1984). Por otro lado, la habilidad de ***Piper eriopodon*** y ***P. diffamatum*** de germinar en ausencia de oxígeno es un claro indicio que estas especies pueden efectuar una fermentación anaeróbica como mecanismo alternativo de producir energía, lo que ecológicamente puede interpretarse como una ventaja en la competencia. De hecho, se puede comprobar que las "aguas de ***P. eriopodon***" producen un dulce olor a vino o licor, mientras las de ***P. diffamatum*** son más bien fétidas.

Las plántulas son epígeas con caracteres suficientes entre los cotiledones y la pigmentación de los diferentes órganos que permiten diferenciar las especies (Fig. 4). La germinación se inicia a los 10-15 días y se completa antes de tres o cuatro semanas. El brote embrional surge con el eje radícula-hipocótilo curvado siempre en dirección del cotiledón menor, manteniéndose así brevemente.

Usualmente el hipocótilo es muy corto, no mayor de cinco milímetros, mientras la raíz primaria puede cuadruplicar esta longitud, como ocurre en ***P. bogotense***. Los cotiledones sufren cambios morfológicos notables durante el desarrollo.

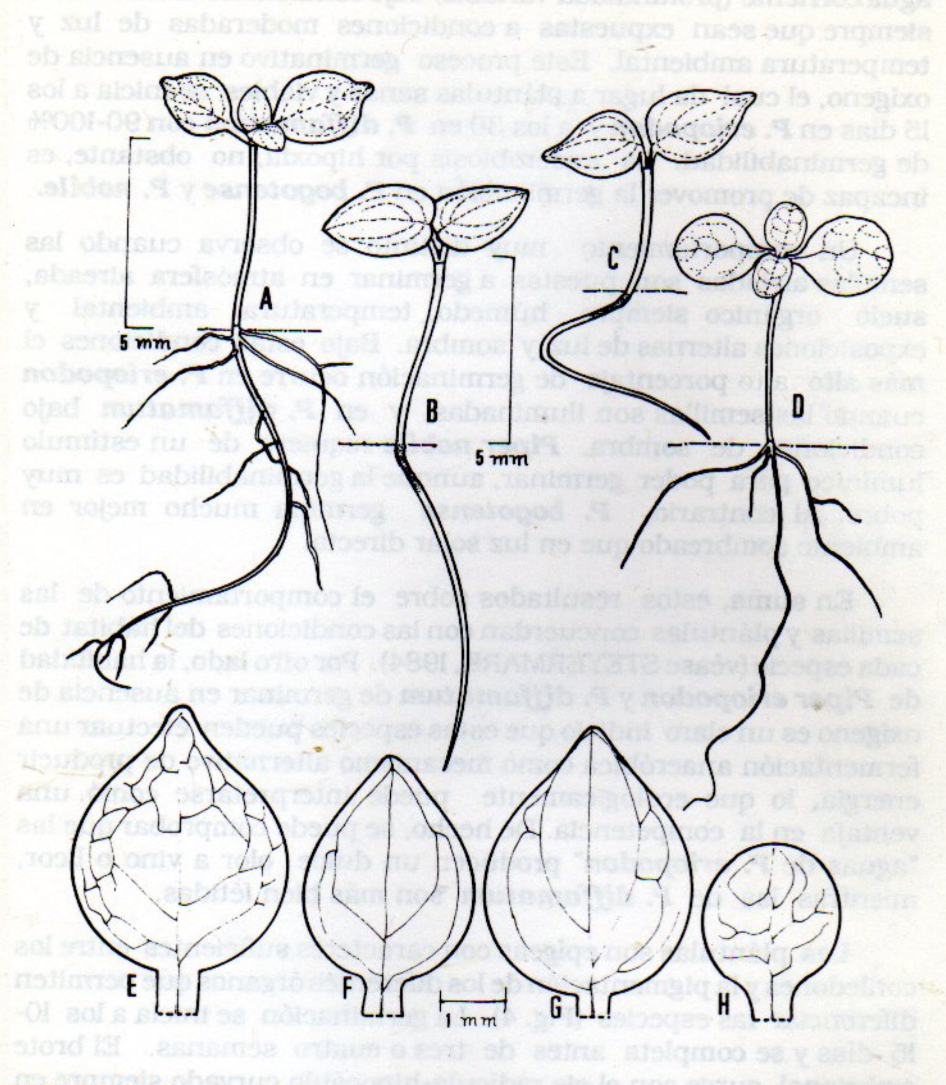


FIGURA 4. Piper. Morfología comparada de la plántula, a los 30 días después de la germinación, y detalle de los cotiledones en: ***P. bogotense*** (A, E), ***P. eriopodon*** (B, F), ***P. diffamatum*** (C, G) y ***P. nobile*** (D, H). Nótese que el enraizamiento, la venación cotiledonar y la iniciación de las primeras hojas vegetativas son marcados en ***P. bogotense*** y ***P. nobile*** en correspondencia al mayor tamaño del embrión en estas especies. El hipocótilo es protostélico y radicante en las cuatro especies. Original de H. López-Naranjo, 1996.

Los caracteres histológicos más significativos de las plántulas son los siguientes:

a) **Sistema epidérmico.** La epidermis del hipocótilo es uniseriada, con un sistema de papilas longitudinales sobresalientes que se pueden homologar con los pelos radicales.

b) **Sistema fundamental.** Aunque algunas especies pueden germinar sumergidas en el agua, no hay adaptación a la vida acuática debido a la ausencia de aerénquima en los tejidos corticales del hipocótilo y la raiz primaria.

c) **Sistema vascular.** El hipocótilo, aunque de geotropismo negativo como el tallo, es protostélico a todo lo largo de su longitud; es decir, exhibe la misma estructura vascular de la raíz primaria. Esta característica implica que la zona de transición vascular entre la raiz y el tallo se manifieste a lo largo de los primeros entrenudos del tallo, sobre el nudo cotiledonar.

Una característica adicional se refiere a la pigmentación. Con la única excepción de ***P. eriopodon***, las plántulas recién germinadas de las otras especies tienen una pigmentación roja intensa en alguno de sus órganos o tejidos. La misma se manifiesta en la caliptra y a lo largo de la radícula en ***P. nobile***; en la plúmula y los pecíolos cotiledonares en ***P. bogotense***; y a lo largo de la vena media del cotiledón menor extendida hasta el hipocótilo en ***P. diffamatum.*** En estos ejemplos, la pigmentación en cuestión, aparentemente carotenoides disueltos en el jugo celular, desaparece a los pocos días después de la germinación.

CONCLUSIONES

La anatomía comparativa de los frutos, semillas y plántulas de cuatro especies de **Piper** de bosques nublados permite evidenciar los siguientes aspectos:

1. El género reúne especies con frutos drupáceos (***Piper bogotense***) y especies con bayas monospermas (***P. eriopodon, P. diffamatum*** y ***P. nobile***).

2. La evolución anatómica del fruto es más rápida que la de la semilla, lo que explica la ausencia de embriones verdaderos en la espiga fructífera.

3. La espiga fructífera, una verdadera infrutescencia, tiende a repetir la estructura primaria del tallo, de la cual difiere en la mayor relación entre haces periféricos y haces medulares (en el tallo esta relación es usualmente de 2:l), en la ausencia de colénquima y en la poca definición histológica de la endodermis o ausencia de la misma.

4. La evolución del fruto y la semilla en las distintas especies tiende hacia la reducción y simplificación de partes, en concordancia con la estructura avanzada de las flores. Por ejemplo, los tejidos del fruto degeneran progresivamente hacia la base y sólo el ápice se desarrolla. Asimismo, la semilla pierde el tegumento interno como estructura protectora, lo mismo que el endosperma como tejido reservante el cual asume otra función. La reducción mayor se observa en ***P. nobile***, donde el perisperma periférico, desde muy tempranamente, pierde su función primaria almacenadora.

5. La semilla verdadera, la cual alcanza la madurez en el suelo húmedo del bosque o en el agua, luego de la diseminación, se distingue por: la testa uniseriada; el embrión recto, grande y bien diferenciado, y el perisperma amiláceo como único tejido nutricio.

6. El endosperma piperáceo es un tejido flexible y elástico, cuya verdadera función es intermediar en la transferencia de metabolitos respiratorios desde el perisperma hasta el embrión. La formación de una ampolla endospérmica notoria en el extremo apical de la semilla marca el fin de la evolución morfológica del embrión. La referida ampolla es hidrofílica y no es raro encontrarla protegiendo a uno de los cotiledones aún después de la germinación.

7. La germinación es rápida pero el crecimiento de las plántulas es lento. La plántula, como el embrión, es claramente dicotiledónea, pero un cotiledón es siempre mayor que el otro. La venación es pinnatinervia.

8. El hipocótilo exhibe el mismo patrón vascular de la raíz primaria, es decir, es protostélico a lo largo de toda su longitud.

9. La simplificación histológica de la testa, la substitución del endosperma por perisperma como tejido nutricio único y el embrión grande y recto, asociados a otros caracteres avanzados de las flores e infrutescencias, alejan mucho a las Piperaceae de todas aquellas familias primitivas de embrión diminuto y endosperma abundante (Magnoliaceae, Aristolochiaceae, Polygonaceae, Urticaceae y afines) con las cuales siempre se trató de relacionar sin éxitos. En un artículo anterior, LOPEZ-NARANJO & Col., 1995), cuestionan la hipótesis que pretende vincular las Aristolochiaceae con las Piperaceae.

10. Desde el punto de vista filogenético, la existencia de dos fases anatómica y ecológicamente distintas en el desarrollo de la semilla parece sugerir que la fase proembriónica puede representar el tipo ancestral del género, mientras la fase embriónica la condición derivada y moderna.

BIBLIOGRAFIA

BAILLON, H. 1872. Histoire des Plantes. Vol. 3. Paris.

CAMPBELL, D.H. 1902. Recent investigations upon the embryo-sac of Angiosperms. American Naturalist, XXXVI, 777.

ESPINOZA DE PERNIA, N. & W.J. LEON. 1995. Estudio anatómico del leño de seis especies del género **Piper** L. Pittieria 23: 5-24.

JOHNSON, D.S. 1902. On the development of certain Piperaceae. Botanical Gazette, XXXIV, 321.

LOPEZ-NARANJO, H. & J. PARRA. 1993. Organografía y hábito de crecimiento de ***Piper nobile*** C.DC. (Piperaceae). Pittieria 20: 79-109.

LOPEZ-NARANJO, H., N. ESPINOZA DE PERNIA & W. LEON. 1995. Nuevos aspectos anatómicos y ecológicos de ***Piper nobile*** y especies afines. Pittieria 23: 25-34.

RENDLE, A.B. 1975. The Classification of Flowering Plants. Vol. II. Dicotyledons. Cambridge University Press. xix+640 p.

STANDLEY, P.C. & J.A. STEYERMARK. 1952. Piperaceae. Flora de Guatemala. Fieldiana: Botany, Vol. 24 (III): 228-337.

STEYERMARK, J. 1984. Flora de Venezuela: Piperaceae. Vol. II. 2da. Parte. Instituto Nacional de Parques. Caracas. 619 p.

TUCKER, S. C. 1982. Inflorescence and flower development in the Piperaceae III. Floral ontogeny of **Piper.** Amer. J. Bot. 69 (9): 1389-1401.

YUNCKER, T.G. 1958. The Piperaceae: A family profile. Brittonia 10 (1): 1-7.